

B 型烟粉虱田间种群对毒死蜱和敌敌畏抗性的生化机制

何玉仙¹, 黄建^{2,*}, 翁启勇¹, 梁智生²

(1. 福建省农业科学院植物保护研究所, 福州 350013; 2. 福建农林大学植物保护学院, 福州 350002)

摘要: 通过增效剂生物测定和生化分析, 探讨了采自福建省的 B 型烟粉虱 *Bemisia tabaci* 6 个田间种群对毒死蜱和敌敌畏抗性的生化机制。结果表明: 与敏感品系 SUD-S 相比, 6 个田间种群对毒死蜱和敌敌畏分别具有 54.53 ~ 78.43 倍和 6.23 ~ 11.25 倍的抗性。TPP、PBO 和 DEM 对毒死蜱的增效比分别为 3.61 ~ 24.94 倍、1.14 ~ 1.76 倍和 1.04 倍, 对敌敌畏的增效比分别为 1.67 ~ 2.64 倍、1.33 ~ 1.65 倍和 1.09 倍, 表明羧酸酯酶的解毒代谢在烟粉虱对毒死蜱的抗性中起着重要作用。烟粉虱抗性种群乙酰胆碱酯酶的 K_m 值是敏感品系的 1.83 ~ 4.0 倍, V_{max} 值是敏感品系的 0.34 ~ 0.62 倍; 敏感品系乙酰胆碱酯酶的活性在底物浓度大于 1.0 mmol/L 时受抑制, 抗性种群乙酰胆碱酯酶的活性在底物浓度大于 16 mmol/L 时受抑制; 抗性种群乙酰胆碱酯酶对敌敌畏和毒死蜱的敏感度分别比敏感品系低 119.92 ~ 161.33 倍和 10.11 ~ 14.24 倍, 表明烟粉虱田间抗性种群乙酰胆碱酯酶可能已发生了变构, 由变构引起的乙酰胆碱酯酶不敏感是烟粉虱田间种群对毒死蜱和敌敌畏产生抗性的重要原因。结果提示, 乙酰胆碱酯酶不敏感性和羧酸酯酶的解毒代谢在烟粉虱对毒死蜱的抗性中均起着重要作用, 而乙酰胆碱酯酶不敏感性在对敌敌畏的抗性中起重要的作用, 多功能氧化酶和谷胱甘肽 S 转移酶在烟粉虱对毒死蜱和敌敌畏抗性中所起的作用不大。

关键词: 烟粉虱; 抗药性; 毒死蜱; 敌敌畏; 生化机制

中图分类号: Q965.9, S481.4 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2008)04-0384-06

Biochemical mechanisms of resistance to chlorpyrifos and dichlorvos in field populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) B-biotype

HE Yu-Xian¹, HUANG Jian^{2,*}, WENG Qi-Yong¹, LIANG Zhi-Sheng² (1. Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China; 2. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Biochemical mechanisms of resistance to chlorpyrifos and dichlorvos were investigated in six field populations of *Bemisia tabaci* collected from Fujian Province of China with synergist bioassay and biochemical analysis. Compared with the susceptible SUD-S strain, the six field populations showed 54.53–78.43 and 6.23–11.25-fold resistance to chlorpyrifos and dichlorvos, respectively. TPP, PBO and DEF had 3.61–24.94, 1.14–1.76, and 1.04-fold synergistic effect on chlorpyrifos, and 1.67–2.64, 1.33–1.65 and 1.09-fold synergistic effect on dichlorvos, respectively, suggesting that carboxylesterase (CarE)-based detoxification could be an important resistance mechanism to chlorpyrifos in *B. tabaci*. K_m and V_{max} of acetylcholinesterase (AChE) of the six field resistant populations were 1.83–4.0 and 0.34–0.62 times those of the SUD-S strain. Activity of AChE was inhibited both in the SUD-S strain and the resistant field populations when their substrate concentrations were higher than 1.0 mmol/L and 16.0 mmol/L, respectively. AChE of the six field resistant populations was 119.92–161.33 and 10.11–14.24-fold less sensitive to chlorpyrifos and dichlorvos than that of the SUS-S strain, respectively. The results suggest that both insensitive AChE and increased CarE are the major mechanisms conferring chlorpyrifos resistance in *B. tabaci*, and only

基金项目: 福建省科技厅重大项目(2003N013); 福建省财政专项——福建省农业科学院科技创新团队建设基金(STIF-Y07)

作者简介: 何玉仙, 男, 1968年生, 博士, 副研究员, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: hyx163@yahoo.com.cn

* 通讯作者: Author for correspondence, E-mail: jhuang@fjau.edu.cn

收稿日期 Received: 2007-04-27; 接受日期 Accepted: 2008-02-19

insensitive AChE is important for dichlorvos resistance.

Key words: *Bemisia tabaci*; insecticide resistance; chlorpyrifos; dichlorvos; biochemical mechanism

烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 是一种世界性的重要害虫, 目前已对有机氯、有机磷、拟除虫菊酯、氨基甲酸酯、烟碱类、昆虫生长调节剂等主要类型杀虫剂产生不同程度的抗药性(何玉仙和黄建, 2005)。作者于 2005 年对福建省各地区烟粉虱田间种群的抗药性进行监测, 结果发现烟粉虱已对有机磷、氨基甲酸酯和拟除虫菊酯等常规杀虫剂普遍产生了较高水平的抗药性(何玉仙等, 2007a), 因此如何防治这些抗性烟粉虱已成为农业生产中的一大难题。要克服或延缓抗性的发展, 首先必须弄清其抗性机理, 为寻找克服抗性的有效途径提供理论依据。

已有研究结果表明, 烟粉虱的抗药性机制包括酯酶、多功能氧化酶代谢作用增强(Ishaaya *et al.*, 1987; Hrowitz *et al.*, 1988; Prabhaker *et al.*, 1988; Ditttrich *et al.*, 1990)、乙酰胆碱酯酶不敏感(Byrne and Devonshire, 1993; Byrne *et al.*, 1994; Cahill *et al.*, 1995; Byrne and Devonshire, 1997)和钠离子通道基因突变引起的神经敏感性下降(Morin *et al.*, 2002; 王利华和吴益东, 2004)。作者已对烟粉虱对拟除虫菊酯杀虫剂的抗性机理进行了研究, 结果发现烟粉虱田间种群对拟除虫菊酯杀虫剂的高水平抗性除了多功能氧化酶和羧酸酯酶的解毒作用这一重要因子外, 神经不敏感因子可能也起着重要的作用(何玉仙等, 2007b); 本文主要以毒死蜱和敌敌畏为例, 通过增效剂增效试验、增效剂对羧酸酯酶和谷胱甘肽 S 转移酶的活体抑制作用、以及不同种群乙酰胆碱酯酶的动力学参数(V_{\max} 和 K_m)和敏感性等研究, 探讨了烟粉虱田间种群对有机磷杀虫剂毒死蜱和敌敌畏抗性的生化机制。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

烟粉虱 6 个田间抗性种群分别为 ND-R 种群(2004 年采自福建省宁德市六都镇茄子地)、FZ-R 种群(2005 年采自福州市新店镇黄瓜地)、ZZ-R 种群(2005 年采自漳州龙海市茄子地)、LY-R 种群(2005 年采自龙岩市红坊镇黄瓜地)、SM-R 种群(2005 年采自三明市洋溪镇黄瓜地)、NP-R 种群(2005 年采自南平市城郊的黄瓜地), 经生物型鉴定均为 B 型(何玉仙等, 2006a); 敏感品系为 SUD-S 品系(是国际公

认的标准敏感品系, 由南京农业大学植物保护学院吴益东教授从英国引进并提供, 经室内长期饲养)。毒力测定及抗性机理研究所采用的试虫均为混合日龄雌成虫。

1.2 供试药剂

95%敌敌畏原油, 天津农药厂; 95.6%毒死蜱原药, 江苏化工农药集团有限公司; 80%敌敌畏乳油, 福州一化精细化工有限公司; 40%毒死蜱乳油, 上海惠光化学有限公司。90%胡椒基丁醚(piperonyl butoxid, PBO), 99%磷酸三苯酯(triphenyl phosphate, TPP), 97%马来酸二乙酯(diethyl maleate, DEM), Sigma-Aldrich 产品; 还原型谷胱甘肽(GSH), Amresco 产品; 1-氯-2, 4-二硝基苯(CDNB)和 5, 5-二硫-双(2-硝基苯甲酸)(DTNB), Lancaster 产品; 碘化硫代乙酰胆碱(ATChI)和固兰 B 盐, Fluka 产品; 其他药品或试剂均为国产分析纯或化学纯。

1.3 增效剂对杀虫剂的增效作用测定

增效剂增效试验参照何玉仙等(2007b)的研究方法。毒力测定参照何玉仙等(2006b)的成虫浸叶生测法。重复 3 次。

1.4 羧酸酯酶(CarE)活性测定(酶标板酶动力学法)

羧酸酯酶活性测定参照何玉仙等(2007b)的研究方法, 酶源蛋白质含量测定根据 Bradford(1976)考马斯亮蓝法进行。重复 3 次。

1.5 谷胱甘肽 S 转移酶(GSTs)活性测定

谷胱甘肽 S 转移酶测定参照何玉仙等(2007b)的研究方法。重复 3 次。

1.6 乙酰胆碱酯酶(AChE)活性测定(酶标板酶动力学法)

参照 Byrne 和 Devonshire(1993)的研究方法。每个种群挑取 100 头烟粉虱雌成虫置于 1.5 mL Eppendorf 管中, 加入 1.0 mL 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.5)含 0.1% Triton X-100), 在冰浴中充分匀浆后 4℃、10 000 r/min 下离心 10 min。取 200 μ L 上清液用相同的缓冲液稀释 5 倍作为酶源。在 96 孔酶标板孔中, 依次加入 50 μ L 酶液、50 μ L 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.5)100 μ L 系列终浓度为 0.03125 ~ 64 mmol/L 的碘化硫代乙酰胆碱(ATChI)和 100 μ L 终浓度为 0.05 mmol/L 的二硫代双硝基苯甲酸(DTNB), 混匀后迅速用 Multiskan MK3 型酶标仪测

定 405 nm 波长下的光密度值 ,每隔 30 s 记录 1 次 ,连续记录 30 次 ,酶促反应阶段温度为 25℃。采用 DPS 统计软件进行数据处理 ,以酶促反应初速度表示酶活性 ,根据 Lineweaver-Burk 作图法求米氏常数 (K_m)和最大反应速度 (V_{max})。重复 3 次。

1.7 抑制中浓度 I_{50} 测定

参照 Byrne 和 Devonshire(1993)的研究方法测定乙酰胆碱酯酶的残余活力。在 96 孔酶标板孔中 ,依次加入 50 μ L 酶液(酶液制备同 1.6)和 50 μ L 抑制剂 (系列浓度) ,在 25℃ 下保温 5 min 后加入 100 μ L 终浓度为 0.5 mmol/L 的碘化硫代乙酰胆碱 (ATChI)和 100 μ L 终浓度为 0.05 mmol/L 的二硫代双硝基苯甲酸 (DTNB) ,混匀后用 Multiskan MK3 型酶标仪测定 405 nm 下的光密度值 ,测定步骤与数据处理方法同 1.6。用 0.1 mol/L 缓冲液 (pH7.5)代替杀虫剂测定无抑制剂作用下的酶活性 ,然后计算抑制剂不同浓度对乙酰胆碱酯酶的抑制率 ,用直线回归分析法求出 I_{50} 值(抑制 50% 酶活力的抑制剂浓度)。重复

3 次。

2 结果与分析

2.1 增效剂对毒死蜱、敌敌畏的增效作用

表 1 结果显示 ,与敏感品系 SUD-S 相比 ,福建省 6 个烟粉虱田间种群对毒死蜱和敌敌畏分别具有 54.53 ~ 78.43 倍和 6.23 ~ 11.25 倍的抗性。对采自田间的抗性种群 ,TPP 对毒死蜱具有明显的增效作用 ,增效比为 3.61 ~ 24.94 倍 ,对敌敌畏的增效作用不明显 ,增效比为 1.67 ~ 2.64 倍。PBO 对毒死蜱、敌敌畏的增效作用不明显 ,增效比分别为 1.14 ~ 1.76 倍和 1.33 ~ 1.65 倍。DEM 对毒死蜱、敌敌畏均无增效作用 ,增效比分别仅为 1.04 倍和 1.09 倍。表明羧酸酯酶的解毒代谢在烟粉虱对毒死蜱的抗性中起着重要作用。多功能氧化酶和谷胱甘肽 S 转移酶在烟粉虱对毒死蜱和敌敌畏抗性中所起的作用不大。

表 1 PBO、TPP 和 DEM 对毒死蜱和敌敌畏的增效作用					
Table 1 The synergistic effect of PBO , TPP and DEM on chlorpyrifos and dichlorvos					
品系/种群 Strain/Population	药剂 Insecticides	$b (\pm SE)$	LC ₅₀ (mg/L) (95% FL)	抗性倍数 RR	增效比 SR
SUD-S	毒死蜱 Chlorpyrifos	2.53 (± 0.25)	19.45 (16.60 ~ 22.64)	1.00	—
	Chlorpyrifos + TPP	2.10 (± 0.22)	13.84 (11.22 ~ 16.44)		1.40
	Chlorpyrifos + PBO	2.04 (± 0.21)	15.11 (12.38 ~ 17.91)		1.29
	Chlorpyrifos + DEM	2.28 (± 0.21)	18.77 (16.04 ~ 21.77)		1.04
ND-R	毒死蜱 Chlorpyrifos	3.71 (± 0.42)	1 258.28 (1 114.90 ~ 1 391.19)	64.69	—
	Chlorpyrifos + TPP	2.34 (± 0.40)	348.63 (223.03 ~ 444.26)	17.92	3.61
	Chlorpyrifos + PBO	3.38 (± 0.41)	1 011.28 (849.66 ~ 1 150.24)	51.99	1.24
	Chlorpyrifos + DEM	3.98 (± 0.49)	1 204.69 (1 065.02 ~ 1 327.55)	61.94	1.04
LY-R	毒死蜱 Chlorpyrifos	3.39 (± 0.31)	1 491.89 (1 361.04 ~ 1 647.48)	76.70	—
	Chlorpyrifos + TPP	1.02 (± 0.19)	175.85 (119.45 ~ 232.75)	9.04	8.48
	Chlorpyrifos + PBO	2.18 (± 0.24)	871.99 (731.17 ~ 1 008.10)	44.83	1.71
NP-R	毒死蜱 Chlorpyrifos	3.45 (± 0.33)	1 335.94 (1 215.65 ~ 1 468.11)	68.68	—
	Chlorpyrifos + TPP	1.34 (± 0.14)	121.34 (95.32 ~ 152.31)	6.24	11.01
	Chlorpyrifos + PBO	2.88 (± 0.28)	862.42 (747.54 ~ 971.41)	44.34	1.55
ZZ-R	毒死蜱 Chlorpyrifos	3.38 (± 0.36)	1 525.51 (1 375.03 ~ 1 691.49)	78.43	—
	Chlorpyrifos + TPP	1.01 (± 0.13)	130.25 (96.49 ~ 173.93)	6.70	11.71
	Chlorpyrifos + PBO	2.18 (± 0.23)	865.81 (728.77 ~ 999.56)	44.51	1.76
SM-R	毒死蜱 Chlorpyrifos	3.12 (± 0.39)	1 060.72 (893.43 ~ 1 202.31)	54.53	—
	Chlorpyrifos + TPP	0.59 (± 0.13)	42.53 (14.39 ~ 74.65)	2.19	24.94
	Chlorpyrifos + PBO	2.54 (± 0.25)	926.74 (799.13 ~ 1 053.20)	47.65	1.14
FZ-R	毒死蜱 Chlorpyrifos	4.53 (± 0.45)	1 483.75 (1 362.85 ~ 1 611.08)	76.29	—
	Chlorpyrifos + TPP	1.27 (± 0.14)	89.29 (66.56 ~ 114.37)	4.59	16.62
	Chlorpyrifos + PBO	2.13 (± 0.22)	858.42 (722.74 ~ 990.88)	44.13	1.73
SUD-S	敌敌畏 Dichlorvos	2.65 (± 0.29)	337.53 (284.06 ~ 387.50)	1.00	—
	Dichlorvos + TPP	2.40 (± 0.28)	289.40 (232.77 ~ 340.28)		1.17
	Dichlorvos + PBO	2.43 (± 0.28)	317.70 (259.52 ~ 371.27)		1.06
	Dichlorvos + DEM	2.47 (± 0.27)	341.10 (285.67 ~ 393.73)		0.99
ND-R	敌敌畏 Dichlorvos	4.77 (± 0.51)	2 102.52 (1 974.14 ~ 2 279.79)	6.23	—

续表 1 Table 1 continued

品系/种群 Strain/Population	药剂 Insecticides	$b(\pm SE)$	LC ₅₀ (mg/L) (95% FL)	抗性倍数 RR	增效比 SR
LY-R	Dichlorvos + TPP	3.65 (± 0.46)	1 259.95 (1 113.10 ~ 1 388.38)	3.73	1.67
	Dichlorvos + PBO	2.99 (± 0.35)	1 334.47 (1 151.25 ~ 1 495.60)	3.95	1.58
	Dichlorvos + DEM	5.46 (± 0.58)	1 937.52 (1 794.66 ~ 2 072.63)	5.74	1.09
	敌敌畏 Dichlorvos	6.13 (± 0.61)	3 617.89 (3 359.43 ~ 3 844.60)	10.72	—
	Dichlorvos + TPP	3.14 (± 0.34)	1 368.25 (1 182.96 ~ 1 535.61)	4.05	2.64
NP-R	Dichlorvos + PBO	3.23 (± 0.37)	2 194.33 (1 921.91 ~ 2 446.46)	6.50	1.65
	敌敌畏 Dichlorvos	5.13 (± 0.58)	3 538.05 (3 313.67 ~ 3 810.22)	10.48	—
	Dichlorvos + TPP	4.08 (± 0.37)	1 692.13 (1 559.27 ~ 1 827.70)	5.01	2.09
ZZ-R	Dichlorvos + PBO	4.20 (± 0.45)	2 248.07 (2 084.64 ~ 2 434.67)	6.66	1.57
	敌敌畏 Dichlorvos	6.13 (± 0.60)	3 796.42 (3 546.34 ~ 4 025.56)	11.25	—
	Dichlorvos + TPP	3.95 (± 0.53)	1 505.27 (1 278.53 ~ 1 679.64)	4.46	2.52
SM-R	Dichlorvos + PBO	4.41 (± 0.47)	2 863.85 (2 623.06 ~ 3 209.81)	8.48	1.33
	敌敌畏 Dichlorvos	5.62 (± 0.66)	2 750.44 (2 542.99 ~ 1 930.73)	8.15	—
	Dichlorvos + TPP	3.70 (± 0.37)	1 462.38 (1 298.15 ~ 1 616.08)	4.33	1.88
FZ-R	Dichlorvos + PBO	4.73 (± 0.50)	1 955.58 (1 806.55 ~ 2 099.29)	5.79	1.41
	敌敌畏 Dichlorvos	4.96 (± 0.42)	3 510.72 (3 282.42 ~ 3 738.96)	10.40	—
	Dichlorvos + TPP	4.17 (± 0.37)	1 686.19 (1 542.70 ~ 1 831.21)	5.00	2.08
	Dichlorvos + PBO	6.07 (± 0.55)	2 407.18 (2 264.44 ~ 2 578.12)	7.13	1.46

2.2 增效剂对抗性烟粉虱羧酸酯酶、谷胱甘肽 S 转移酶的活体抑制

为了进一步证实羧酸酯酶和谷胱甘肽 S 转移酶与烟粉虱抗药性的关系 ,分别测定了 TPP 和 DEM 对抗性烟粉虱羧酸酯酶、谷胱甘肽 S 转移酶的活体抑制作用。结果显示 ,TPP 对抗性烟粉虱羧酸酯酶表现强烈的活体抑制作用 ,抑制率达 89.83% ;DEM 对抗性烟粉虱谷胱甘肽 S 转移酶具有一定的活体抑制作用 ,抑制率达 24.40%。

2.3 底物浓度对烟粉虱乙酰胆碱酯酶活性的影响

不同底物浓度对烟粉虱敏感品系和 6 个田间抗性种群乙酰胆碱酯酶活性的影响如图 1 所示 ,敏感品系乙酰胆碱酯酶的活性在 0.03125 ~ 0.5 mmol/L 底物浓度范围内随着底物浓度的增高而上升 ,当底物浓度大于 1.0 mmol/L 时 ,敏感品系乙酰胆碱酯酶的活性受抑制 ;抗性种群乙酰胆碱酯酶的活性在 0.03125 ~ 8 mmol/L 底物浓度范围内随着底物浓度的增高而上升 ,当底物浓度大于 16 mmol/L 时 ,抗性种群乙酰胆碱酯酶的活性受抑制。

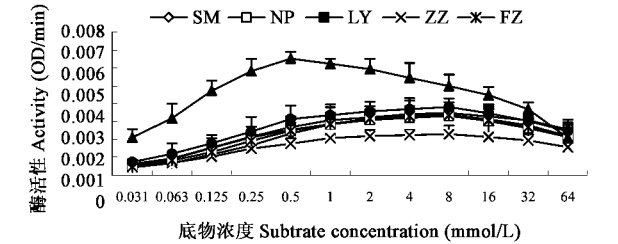


图 1 底物浓度对乙酰胆碱酯酶活性的影响
Fig. 1 Effect of substrate concentration on activity of AChE

2.4 不同烟粉虱种群乙酰胆碱酯酶的 V_{max} 和 K_m 比较

不同烟粉虱种群乙酰胆碱酯酶对底物(ATChI)的 K_m 和 V_{max} 值测定结果 (表 2)显示 ,抗性种群乙酰胆碱酯酶的 V_{max} 值是敏感品系的 0.34 ~ 0.62 倍 ,而 K_m 值是敏感品系的 1.83 ~ 4.0 倍 ,表明烟粉虱田间抗性种群乙酰胆碱酯酶的活性明显低于敏感品系 ,对正常底物的亲和力也明显低于敏感品系 ,烟粉虱田间抗性种群乙酰胆碱酯酶的性质已发生了变化。

表 2 不同烟粉虱种群乙酰胆碱酯酶的 K_m 和 V_{max} 值

Table 2 K_m and V_{max} of AChE in different populations of <i>B. tabaci</i>				
品系/种群 Strain/Population	K_m (mmol/L)		V_{max} (OD·min ⁻¹ ·mg ⁻¹)	
	Mean \pm SE	R/S	Mean \pm SE	R/S
SUD-S	0.06 \pm 0.02		0.85 \pm 0.02	
FZ-R	0.19 \pm 0.01	3.17	0.45 \pm 0.06	0.53
ZZ-R	0.24 \pm 0.06	4.00	0.29 \pm 0.07	0.34
LY-R	0.15 \pm 0.01	2.50	0.48 \pm 0.07	0.56
SM-R	0.11 \pm 0.02	1.83	0.47 \pm 0.04	0.55
NP-R	0.16 \pm 0.01	2.67	0.53 \pm 0.07	0.62
ND-R	0.14 \pm 0.02	2.33	0.46 \pm 0.01	0.54

2.5 不同烟粉虱种群乙酰胆碱酯酶的敏感度比较

分别测定敌敌畏、毒死蜱对抗性种群和敏感品系乙酰胆碱酯酶的 I_{50} 值 ,表 3 结果显示 ,6 个烟粉虱抗性种群乙酰胆碱酯酶对敌敌畏的敏感度比敏感品系低 119.92 ~ 161.33 倍 ,对毒死蜱的敏感度比敏感品系低 10.11 ~ 14.24 倍。

表 3 不同烟粉虱种群乙酰胆碱酯酶对敌敌畏、毒死蜱的抑制中浓度(I₅₀)

Table 3 The I₅₀ values of AChE in different populations of *B. tabaci* to dichlorvos and chlorpyrifos

品系/种群 Strain/Population	敌敌畏 Dichlorvos		毒死蜱 Chlorpyrifos	
	I ₅₀ (μmol/L)	R/S	I ₅₀ (μmol/L)	R/S
SUD-S	9.20 ± 3.26	—	307.81 ± 78.82	—
FZ-R	1 287.33 ± 184.28	139.93	3 619.82 ± 474.13	11.76
ZZ-R	1 484.28 ± 226.93	161.33	4 384.66 ± 648.92	14.24
LY-R	1 247.91 ± 204.20	135.64	4 030.06 ± 704.27	13.10
SM-R	1 103.26 ± 169.35	119.92	3 113.36 ± 454.29	10.11
NP-R	1 225.36 ± 197.49	133.19	3 304.50 ± 396.08	10.74
ND-R	1 162.13 ± 222.73	126.32	3 432.24 ± 542.61	11.15

3 讨论

TPP、DEM 分别是羧酸酯酶和谷胱甘肽 S 转移酶的专一性抑制剂,我们通过研究发现 TPP 对抗性烟粉虱羧酸酯酶表现强烈的活体抑制作用,DEM 对抗性烟粉虱谷胱甘肽 S 转移酶也有一定的活体抑制作用,但在增效试验中,TPP 仅对毒死蜱表现明显的增效作用,而对敌敌畏的增效作用不明显,DEM 对毒死蜱、敌敌畏均无增效作用。这些结果表明羧酸酯酶在烟粉虱田间种群对毒死蜱的抗性中起重要作用,这与烟粉虱对马拉硫磷的抗性机制相似。Prabhaker 等(1988)测定了 DEF、TPP 和 PBO 3 种增效剂对马拉硫磷、甲基对硫磷、乙丙硫磷和氯菊酯的增效作用,发现羧酸酯酶影响烟粉虱对马拉硫磷的抗性。

乙酰胆碱酯酶是有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂的重要靶标酶,乙酰胆碱酯酶敏感度降低是昆虫和螨对这些杀虫剂产生抗性的重要机理之一(唐振华, 1993)。关于乙酰胆碱酯酶敏感度下降与烟粉虱对有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂抗性的关系,Byrne 和 Devonshire(1993)研究发现,在烟粉虱抗性种群中,乙酰胆碱酯酶不敏感的个体占了很大的比例,这些不敏感乙酰胆碱酯酶能够引起高水平的抗药性。Byrne 等(1994)研究认为,烟粉虱对久效磷、丙溴磷和毒死蜱等有机磷杀虫剂的抗性与乙酰胆碱酯酶不敏感有关,烟粉虱对拟除虫菊酯和有机磷混剂的抗药性很大程度上是因为乙酰胆碱酯酶的不敏感。Cahill 等(1995)研究发现,对有机磷杀虫剂表现抗性的烟粉虱种群,都具有一至二类不敏感的乙酰胆碱酯酶。Byrne 和 Devonshire(1997)研究认为,烟粉虱对有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂的抗性与其靶标酶乙酰胆碱酯酶不敏感有关,以色列种群乙酰胆碱酯酶对毒死蜱、涕灭威、azamethiphos、残杀威、甲氧磷、久

效磷的敏感性下降了 116 ~ 2 800 倍,巴基斯坦种群乙酰胆碱酯酶对涕灭威、毒死蜱、甲氧磷、久效磷、azamethiphos、残杀威的敏感性下降了 5 ~ 4 200 倍。我们通过生化分析发现,烟粉虱抗性种群乙酰胆碱酯酶对正常底物的亲和力(K_m)明显低于敏感品系,而且当底物(ATChI)浓度大于 1.0 mmol/L(即 1 × 10⁻³ mol/L)时,敏感品系乙酰胆碱酯酶的活性受抑制,而抗性种群乙酰胆碱酯酶的活性只有当底物浓度大于 16 mmol/L(即 1.6 × 10⁻² mol/L)时才受抑制。一般正常乙酰胆碱酯酶和牛红血球乙酰胆碱酯酶的活性在底物(ATChI)的浓度大于 1 × 10⁻³ mol/L 时会受抑制,而变构乙酰胆碱酯酶的活性只有在底物(ATChI)的浓度大于 1 × 10⁻² mol/L 时才会受抑制(唐振华, 1993)。由此推测,烟粉虱田间抗性种群的乙酰胆碱酯酶已发生了变构。进一步研究发现,与敏感品系相比,抗性种群乙酰胆碱酯酶对敌敌畏、毒死蜱的敏感度明显下降。

综合以上研究结果表明,乙酰胆碱酯酶不敏感性和羧酸酯酶的解毒代谢在烟粉虱对毒死蜱的抗性中均起着重要作用,而乙酰胆碱酯酶不敏感性在对敌敌畏的抗性中起重要的作用。多功能氧化酶和谷胱甘肽 S-转移酶在烟粉虱对毒死蜱和敌敌畏抗性中所起的作用不大。

参 考 文 献 (References)

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72 : 248 – 254.

Byrne FJ, Cahill M, Denholm I, Devonshire AL, 1994. A biochemical and toxicological study of the role of insensitive acetylcholinesterase in organophosphorus resistant *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae) from Israel. *Bulletin of Entomological Research*, 84(2): 179 – 184.

Byrne FJ, Devonshire AL, 1993. Insensitive acetylcholinesterase and esterase polymorphism in susceptible and resistant population of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci*(Genn.). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 45(1):

34 – 42.

Byrne FJ , Devonshire AL , 1997. Kinetics of insensitive acetylcholinesterases in organophosphate-resistant tobacco whitefly , *Bemisia tabaci* (Gennadius)(Homoptera : Aleyrodidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* , 58(2) : 119 – 124.

Cahill M , Byrne FJ , Gorman K , Denholm I , Devonshire AL , 1995. Pyrethroid and organophosphate resistance in the tobacco whitefly *Bemisia tabaci*(Homoptera : Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research* , 85(2) : 181 – 187.

Dittrich V , Ernst GH , Ruesch O , Uk S , 1990. Resistance mechanisms in sweetpotato whitefly (Homoptera : Aleyrodidae) populations from Sudan , Turkey , Guatemala , and Nicaragua. *J. Econ. Entomol.* , 83(5) : 1 665 – 1 670.

He YX , Huang J , 2005. Advance of insecticide resistance in *Bemisia tabaci*. *Entomological Journal of East China* , 14(4) : 336 – 342. [何玉仙 , 黄建 , 2005. 烟粉虱抗药性的研究进展. 华东昆虫学报 , 14(4) : 336 – 342]

He YX , Weng QY , Huang J , Liang ZS , Lin GJ , Wu DD , 2007a. Insecticide resistance of *Bemisia tabaci* field populations. *Chinese Journal of Applied Ecology* , 18(7) : 1 578 – 1 582. [何玉仙 , 翁启勇 , 黄建 , 梁智生 , 林桂君 , 吴咚咚 , 2007. 烟粉虱田间种群的抗药性. 应用生态学报 , 18(7) : 1 578 – 1 582]

He YX , Huang J , Yang XJ , Weng QY , 2007b. Pyrethroid resistance mechanisms in *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Acta Entomologica Sinica* , 50(3) : 241 – 247. [何玉仙 , 黄建 , 杨秀娟 , 翁启勇 , 2007b. 烟粉虱对拟除虫菊酯杀虫剂的抗性机理. 昆虫学报 , 50(3) : 241 – 247]

He YX , Yang XJ , Weng QY , Huang J , WANG LH , 2006a. Biotype identification of the populations of *Bemisia tabaci* in Fujian , China. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University* , 35(5) : 486 – 490. [何玉仙 , 杨秀娟 , 翁启勇 , 黄建 , 王利华 , 2006. 福建省烟粉虱生物型鉴定. 福建农林大学学报 , 35(5) : 486 – 490]

He YX , Liang ZS , Lin GJ , Wu DD , Huang J , 2006b. Bioassay for neonicotinoid resistance in adults of *Bemisia tabaci*. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University* , 35(2) : 143 – 146. [何玉仙 , 梁智生 , 林桂君 , 吴咚咚 , 黄建 , 2006. 烟粉虱成虫对烟碱类杀虫剂抗性的生物测定方法. 福建农林大学学报 , 35(2) : 143 – 146]

Hrowitz AR , Toscano NC , Youngman RR , Georgiou GP , 1988. Synergism of insecticides with DEF in sweetpotato whitefly (Homoptera : Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* , 81(1) : 110 – 114.

Ishaaya I , Mendelson Z , Ascher KRS , Casida JE , 1987. Cypermethrin synergism by pyrethroid esterase inhibitors in adults of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Pestic. Biochem. Physiol.* , 28(2) : 155 – 162.

Morin S , Williamson MS , Goodsons J , Brown JK , Tabashnik BE , Dennehy TJ , 2002. Mutations in the *Bemisia tabaci* para sodium channel gene associated with resistance to a pyrethroid plus organophosphate mixture. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* , 32 : 1 781 – 1 791.

Prabhaker N , Coudriet DL , Toscano NC. 1988. Effect of synergists on organophosphate and permethrin resistance in a sweetpotato whitefly (Homoptera : Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* , 81(1) : 34 – 39.

Tang ZH , 1993. Insect Resistance and Management. China Agriculture Press , Beijing. 217 – 297. [唐振华 , 1993. 昆虫抗药性及其治理. 北京 : 农业出版社 , 217 – 297]

Wang LH , Wu YD , 2004. A mutation in sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in *Bemisia tabaci* (Gennadius) and its detection. *Acta Entomologica Sinica* , 47(4) : 449 – 453. [王利华 , 吴益东 , 2004. 与拟除虫菊酯抗性相关的烟粉虱钠通道基因突变及其检测. 昆虫学报 , 2004 , 47(4) : 449 – 453]

(责任编辑 : 黄玲巧)